

SOLUBILIZAÇÃO QUANTITATIVA DE FOSFATOS INSOLÚVEIS, POR ALGUMAS  
ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Aspergillus* E *Penicillium*<sup>1</sup>

Paulo de C.T. de Carvalho<sup>2</sup>  
Augusto F. da Eira<sup>3</sup>  
Domingos Pellegrino<sup>4</sup>

RESUMO

No presente trabalho, os autores estudaram, em condições de laboratório, as relações entre algumas espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* e três fosfatos insolúveis, determinando quantitativamente o fósforo solubilizado e imobilizado. Dos resultados, os autores extraíram as seguintes conclusões:

1. Todas as linhagens estudadas demonstraram alta capacidade solubilizadora nos testes em placas de petri. No entanto, quando analisadas quantitativamente, apenas o *A.niger* foi capaz de solubilizar quantidades apreciáveis de fosfatos insolúveis.

2. A análise dos dados, obtidos com as linhagens de *Penicillium* spp, indicou que ambas aumentaram significativamente os níveis de fósforo solúvel para os tratamentos com fosfato de alumínio, em relação a seus homólogos estéreis; diminuíram significativamente os níveis de fósforo solúvel das testemunhas e, não alteraram significativamente os níveis dos tratamentos com fosfato de ferro. Por outro lado, nos tratamentos com apatita de Araxá o nível de fósforo solúvel não foi alterado significativamente com a linhagem 4 Raiz III e, diminuiu significativamente, com a linhagem 8 RIZ III.

3. A linhagem de *Aspergillus* sp, apresentou com-

---

1 Entregue para publicação em 23/12/1969, realizado com auxílio da FAPESP, junto à Cadeira de Fitopatologia e Microbiologia, da E.S.A. "Luiz de Queiroz."

2 Cadeira de Fitopatologia, E.S.A. "Luiz de Queiroz".

3 Bolsista da FAPESP.

4 Cadeira de Química Analítica e Físico-Química, E.S.A. "Luiz de Queiroz". USP.

portamento diferente dos demais fungos, diminuindo significativamente os níveis de fósforo solúvel de todos os tratamentos.

4. A aderência de numerosas partículas de fosfatos insolúveis à trama miceliana, é fator de erro que pode explicar as discrepâncias nos valores obtidos pela determinação indireta do fósforo assimilável do solo, empregando-se técnicas biológicas com *A. niger* ou outros fungos.

### INTRODUÇÃO

A importância do fósforo na nutrição das plantas é reconhecida por todos os especialistas em agricultura e o seu papel na produção vegetal é salientado constantemente. Considerado um dos macronutrientes essenciais na nutrição vegetal, é muito estudado como constituinte vital dos tecidos e indispensável no metabolismo vegetal. Assim, os pedologistas, os químicos agrícolas e os fisiologistas, vêm dedicando considerável atenção às reações do fósforo no solo, sua adsorção pela fração argila, sua disponibilidade e utilização pelas plantas superiores (MALAVOLTA, 1967). Ao mesmo tempo, experimentos de campo são conduzidos mostrando a essencialidade do fósforo para a obtenção de altos rendimentos agrícolas, sendo os fertilizantes com fosfato solúvel, geralmente considerados os de mais fácil utilização pelas plantas superiores. Como consequência, o consumo de fosfato solúvel é cada vez maior na agricultura brasileira, sendo que no ano de 1967 foram consumidas 165.954 T, contra apenas 38.652 T de fosfato insolúvel; e que 46% dos fertilizantes solúveis foram importados, apesar das reservas de apatita em Araxá e fosforita em Olinda, possam satisfazer a todas as necessidades brasileiras em fertilizantes fosfatados (ANDA, 1968).

Encarados por este aspecto, revestem-se de alta significação todos os estudos que visam um melhor aproveitamento dos fosfatos naturais insolúveis pela planta, já existindo numerosos experimentos em vasos e de campo sobre o assunto (MALAVOLTA, 1967).

No entanto, no Brasil, o estudo das relações entre fosfatos e microrganismos do solo têm merecido muito pouca atenção. Como já é conhecido na literatura, muitos fungos e bactérias do solo podem solubilizar formas insolúveis de fosfatos tais como apatitas, fosforitas, fosfatos bi e tricálcicos, imobilizando parte do fósforo solubilizado em seus talos sob a forma de compostos orgânicos, chamados genericamente de fósforo microbiano. Outra parte do fósforo P<sub>205</sub> solubilizado, no entanto,

pode ser liberada no solo em forma utilizável pelas plantas (ALEXANDER, 1961). Este processo, ultimamente, tem merecido a atenção de vários pesquisadores, já existindo uma extensa relação de fungos e bactérias solubilizadoras de fosfatos (RAMOS, CALLAO & CARVALHO, 1967; BOTTEZ, 1965; SUBRA-RAO & BAJPAI, 1965). No entanto, têm sido estudados unicamente os solos de regiões temperadas, geralmente alcalinos, sendo o fósforo fixado, principalmente, na forma de fosfato tricálcico. Nestes solos e, principalmente, nos solos russos, já se preconizam técnicas para o aproveitamento de fosfatos insolúveis pela inoculação com bactérias solubilizadoras, as chamadas fosfobacterinas, aumentando sensivelmente a produção de centeio, arroz, morangueiro, ervilha, cevada e outras (HOLEVAS, 1966; ZAREMBA, TOMASHEVSKAYA, MALINSKAYA, 1966; ZAK & MUKITITDINOV, 1964; KUDZIN & YAROSHEVICH, 1961; BARBER & LONGHMAN, 1967).

Para os solos tropicais, geralmente ácidos e, onde o fósforo é fixado principalmente como fosfatos de ferro e alumínio, poucas são as referências que encontramos na literatura, no entanto, recentemente, um levantamento da microflora de solos da região de Piracicaba, indicou alta porcentagem de microrganismos solubilizadores, notadamente fungos, com linhagens capazes de solubilizar apatita, fosforita, fosfatos de ferro e alumínio e outros insolúveis (EIRA & CARVALHO, 1968). Entretanto, a simples existência desses fungos solubilizadores no solo, pouco indica sobre a potencialidade do processo, face à possibilidade de imobilização, como fósforo microbiano, de todo o fósforo solubilizado. Neste caso, os microrganismos poderiam, inclusive, ser danosos às plantas por imobilizarem todo o fósforo utilizável.

No presente trabalho os autores procuraram, em condições de laboratório, estudar as relações entre alguns fungos do solo e fosfatos insolúveis, determinando quantitativamente sua capacidade solubilizadora e imobilizadora, visando a obtenção de conhecimentos básicos, inclusive sobre a metodologia, que permitam, futuramente, um estudo mais profundo das relações entre a microflora do solo e o fósforo, nas condições tropicais do Estado de São Paulo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

No presente trabalho, foi utilizado o material abaixo descrito.

**Fungos solubilizadores:** os fungos solubilizadores utilizados, foram isolados de solos do Município de Piracicaba, Estado de São Paulo, todos pertencentes à micoteca do Departamento de Fitopatologia e Microbiologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, estando relacionados no Quadro 1.

QUADRO 1 - Fungos solubilizadores

Nº do isolado	Classificação	Procedência
1SI	<i>Aspergillus niger</i>	isolado do solo do parque da ESALQ
4RAIZIII	<i>Penicillium</i> sp	isolado de raízes de cana-de-açúcar Sertãozinho-Piracicaba
4SIV	<i>Aspergillus</i> sp	isolado P.V.A. Pompéia (Piracicaba)
8RIZIII	<i>Penicillium</i> sp	rizosfera de cana-de-açúcar (Sertãozinho-Piracicaba)

**Meios de cultura:** em todos os ensaios foi utilizado o meio líquido de extrato de leveduras (0,2%), glicose(1,5%) e água destilada q.s.p. 100 ml ao qual se adicionava (0,5%) do fosfato em estudo.

**Fosfatos:** os diversos fosfatos insolúveis utilizados durante a pesquisa foram: a apatita de Araxá, fosfato de ferro, fosfato de alumínio e o fosfato monocálcico.

**Tratamentos:** para cada fungo solubilizador estudado, foram utilizados os tratamentos relacionados no Quadro 2.

QUADRO 2 - Tratamentos

Número	Tratamento
1	Meio de cultura (testemunha em branco)
2	Meio de cultura + inóculo (testemunha inoculada)
3	Meio de cultura + apatita
4	Meio de cultura + apatita + inóculo
5	Meio de cultura + $\text{FePO}_4$
6	Meio de cultura + $\text{FePO}_4$ + inóculo
7	Meio de cultura + $\text{AlPO}_4$
8	Meio de cultura + $\text{AlPO}_4$ + inóculo
9	Meio de cultura + fosfato monocálcico + inóculo

Métodos

Preparo, esterilização e inoculação dos meios: o extrato de leveduras, a glicose e os fosfatos eram preparados e esterilizados em autoclave, separadamente, para se evitar a ocorrência de hidrólises e reações entre os seus componentes. Após a esterilização, eram misturados em condições assépticas e nas proporções correspondentes. Para a inoculação, retirou-se com o auxílio de uma alça de platina em cone, 3 discos de uma cultura com uma semana de idade, os quais foram transferidos para um tubo com 5 ml de água estéril, o qual foi agitado para obtenção da suspensão dos esporos. A seguir, em frascos Erlenmeyer contendo 100 ml do meio de cultura e fosfato, eram inoculados com 0,1 ml da suspensão de esporos do fungo em estudo, sendo a cultura incubada em agitador durante 11 dias.

Colheita do experimento: para a colheita do experimento, todo o conteúdo dos frascos Erlenmeyer (micélio, meio de cultura e fosfato) era transferido para tubos plásticos e a seguir, centrifugados a 13.000 rpm durante 20 minutos. Do líquido sobrenadante dos tubos era coletada uma alíquota, com a qual se determinava o fósforo solúvel em  $\mu\text{g}$  por ml. O micélio, que ficava depositado no fundo dos tubos, era lavado e centrifugado novamente por 3 vezes, para a eliminação de todas as partículas de fosfato insolúvel porventura presentes. A seguir, o micélio era recolhido num cadinho para a obtenção do seu peso seco.

Colheita do micélio para a determinação do fósforo orgânico: não obstante todos os cuidados tomados através das lavagens e centrifugações sucessivas, não foi possível a elimina-

ção de tôdas as partículas de fosfato insolúvel aderentes à trama miceliana, o que se comprovava através de exame microscópico. Para se contornar esse problema, cultivou-se nas mesmas condições do experimento, os fungos em estudo, crescendo em meio líquido de extrato de leveduras e glicose, ao qual foram adicionados 0,5 g de fosfato monocálcico, altamente solúvel. Nestas condições, o fungo cresceu em meio com igual teor de fósforo, totalmente solúvel, que não apresentou, logicamente, partículas de fosfatos aderentes à trama miceliana. Para a colheita do experimento, seguiu-se o mesmo método descrito anteriormente sendo o fósforo orgânico determinado em  $\mu\text{g}$  por mg de peso seco do micélio.

Análise do fósforo solúvel e microbiano: a) A determinação do fósforo solúvel em água, seguiu o método da redução do fosfomolibdato de amônio, pelo ácido ascórbico, tal como o utilizado por CATANI & BATAGLIA (1968). b) Na determinação do fósforo microbiano, o micélio dos fungos, foi inicialmente seco em estufa a 80°C, moído e digerido. O material digerido, a seguir, foi filtrado para balões de 100 ml e, após cinco lavagens, completou-se o volume com água destilada, q.s.p. até 100 ml. Retirou-se uma alíquota para análise do fósforo solúvel, seguindo-se o mesmo método, para determinação do fósforo solúvel em água.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados são apresentados nos Quadros 3, 4, 5, 6 e 7, contendo as médias do fósforo solúvel e microbiano. Seguem-se aos Quadros 3, 4, 5 e 6, as respectivas análises estatísticas, para o fósforo solúvel.

QUADRO 3 - Comportamento da linhagem 4 RAIZ III de *Penicillium* sp, relativamente ao fósforo solúvel e microbiano total

Tratamentos	Nº estêreis * P.S.X. (mg)	Nº Inoculados P.S.X. (mg)	P.M.X. (mg)
Testemunhas	2,45	0,52	0,0098
Com apatita	1,51	1,14	0,2358
Com $\text{FePO}_4$	4,08	3,72	0,1714
Com $\text{AlPO}_4$	13,39	13,96	0,1051

\* P.S. = fósforo solúvel

P.M. = fósforo microbiano

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	7	620,11	88,59	3.691**
RESIDUO	16	0,38	0,024	

TOTAL 23 620,49 26,98

C.V. = 3,14% A.M.S. (Tukey) para tratamentos = 0,44\*  
0,54\*\*

QUADRO 4 - Comportamento da linhagem 4 S IV de *Aspergillus* sp.

Tratamentos	Estéreis P.S.X. (mg)	Inoculados P.S.X. (mg)	P.M.X. (mg)
Testemunhas	2,45	0,41	0,0147
Com apatita	1,51	1,06	0,2034
Com FePO <sub>4</sub>	4,08	3,55	0,0730
Com AlPO <sub>4</sub>	13,39	12,93	0,1282

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	7	574,38	82,05	8.205
RESIDUO	16	0,18	0,01	

TOTAL 23 574,56 24,98

C.V. = 2,03% A.M.S. (Tukey) para tratamentos = 0,08\* e 0,11\*\*

QUADRO 5 - Comportamento da linhagem 8 RIZ III de *Penicillium* sp

Tratamentos	Estéreis P.S. $\bar{x}$ . (mg)	Inoculados P.S. $\bar{x}$ . (mg)	P.M. $\bar{x}$ . (mg)
Testemunha	2,45	0,53	0,0131
Com apatita	1,51	0,80	0,1126
Com FePO <sub>4</sub>	4,08	3,90	0,0895
Com AlPO <sub>4</sub>	13,39	15,77	0,0717

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	7	732,03	105,57	1.919**
RESIDUO	16	0,89	0,055	
TOTAL	23	732,92	31,87	

C.V. = 4,4% A.M.S. (Tukey) para tratamentos = 0,66\* e 0,82\*\*

QUADRO 6 - Comportamento da linhagem 1SI de *Aspergillus niger*

Tratamentos	Estéreis P.S. $\bar{x}$ . (mg)	Inoculados P.S. $\bar{x}$ . (mg)	P.M. $\bar{x}$ . (mg)
Testemunha	2,61	2,42	0,7759
Com apatita	4,69	22,67	5,7255
Com FePO <sub>4</sub>	11,77	17,91	5,0160
Com AlPO <sub>4</sub>	41,73	70,09	3,3660

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	7	14.469,69	2.067,10	203,6**
RESIDUO	16	162,42	10,15	
TOTAL	23	14.632,11	636,17	

C.V. = 13,95% A.M.S. (Tukey) para tratamentos = 9,02\* e 11,19\*\*



QUADRO 7 - Dados para a estimativa do fósforo microbiano, dos tratamentos com apatita, fosfato de ferro e alumínio, obtidos pelo crescimento dos micélios em meio de cultura mais fosfato monocálcico

MICROORGANISMOS	µg de P/mg $\bar{x}$ de micélio
<i>Aspergillus niger</i> - 1 S I	7,670
<i>Penicillium</i> sp - 8 RIZ III	0,141
<i>Aspergillus</i> sp - 4 S IV	0,254
<i>Penicillium</i> sp - 4 RAIZ III	0,355

Os resultados obtidos no presente trabalho, devem ser examinados quanto à metodologia usada e quanto à solubilização dos fosfatos insolúveis pelos diferentes fungos.

No concernente à metodologia, destaca-se as dificuldades encontradas, na determinação do fósforo retido pelos fungos, no interior de seu micélio, como fósforo microbiano. Foi verificado, por exame microscópico, que numerosas partículas do fosfato insolúvel utilizado, ficavam retidas externa e internamente pelas tramas micelianas, mesmo após lavagens sucessivas e centrifugações. Nestas condições, a análise química indicava quantidades de fósforo que não representavam apenas o fósforo microbiano. Para eliminar essa fonte de erro, houve necessidade da determinação indireta do fósforo microbiano, o que foi feito pela inoculação dos fungos em meio de glucose/levedura, adicionado de 0,5% de fosfato monocálcico, completamente solúvel. Assim, foi possível a obtenção do micélio, formado em meio com quantidades de fosfato semelhantes às do experimento e, sem que houvesse partículas de fosfato, retidas pela trama miceliana. A seguir, com base no valor do fósforo microbiano/mg de micélio e, no peso seco do micélio coletado nos tratamentos com fósforo insolúvel, calculou-se o valor do fósforo microbiano.

Embora essa técnica permitisse apenas uma estimativa do fósforo microbiano, ainda permaneceu, como fonte de erro, o peso das partículas insolúveis de fosfato, retidas pela trama miceliana, nos tratamentos em que os fungos eram cultivados em meio com apatita, fosfatos de ferro e fosfato de alumínio. Essas partículas aderentes aumentaram o peso seco do micélio mas, é de se supor, não alterarem sensivelmente os resultados obtidos. Na

literatura consultada, não encontramos esclarecimentos a respeito. MENARD & MALAVOLTA (1962), trabalhando com adubos fosfatos marcados com fósforo 32, entre os quais a apatita de Araxá, experimentaram alguns métodos para determinação do valor "A" (quantidade de fósforo assimilável do solo). Os autores verificaram não haver correlação entre os valores de "A" obtidos pela técnica de Niklas e aqueles obtidos pela técnica de Neubauer e Schneider, pois o valor de "A" obtido pela primeira era sempre muito alto.

Pelas observações, transcritas no presente trabalho, quer-nos parecer que, no micélio de *A. niger* (técnica de Niklas), as partículas de fosfatos retidas na trama miceliana, acarretaram a elevação do valor de "A", encontrado pelos referidos autores.

Apesar dessas limitações, foi possível verificar-se uma diferença sensível entre os resultados obtidos por solubilização em placa de petri e os resultados quantitativos. Todas as linhagens estudadas foram selecionadas por EIRA & CARVALHO (1968) e demonstraram alta capacidade solubilizadora pelos testes em placa de petri. No entanto, quando analisadas quantitativamente, pela técnica empregada no presente trabalho, apenas *Aspergillus niger* foi capaz de solubilizar quantidades apreciáveis de fosfatos insolúveis, immobilizando parte desse fósforo em seu micélio, como fósforo microbiano, e liberando parte como fósforo solúvel.

A análise estatística dos dados, indicou resíduos muito diferentes para os quatro experimentos, de tal forma a não permitir comparações entre os mesmos, principalmente o experimento com *A. niger* 1 SI, que não pôde ser comparado com os demais, devido ao seu alto resíduo. Somente foram possíveis as comparações entre *Penicillium* sp 8 RIZ III X *Penicillium* sp - 4 RIZ III e, *Penicillium* sp - 4 RIZ III X *Aspergillus* sp - 4S IV.

As linhagens das espécies de *Penicillium*, apresentaram comportamento semelhante. A análise dos dados de ambas indicou haver significância no aumento dos níveis de fósforo solúvel, para o tratamento com  $AlPO_4$  inoculado, em relação ao seu homólogo estéril; significância no abaixamento dos níveis de fósforo solúvel, das testemunhas; por outro lado, os níveis de fósforo solúvel dos tratamentos com  $FePO_4$  não foram alterados significativamente, enquanto que nos tratamentos com apatita de Araxá, o nível de fósforo solúvel não foi alterado significativamente naquele inoculado com a linhagem 4 RIZ III, e diminuiu significativamente, quando inoculado com a linhagem 8 RIZ III.

A linhagem 4 SIV de *Aspergillus* sp, apresentou comportamento diferente dos demais fungos, pelo fato de diminuir significativamente os níveis de fósforo solúvel de todos os tratamentos.

A linhagem 1 SI de *A. niger*, apresentou elevada capacidade de solubilizar a apatita de Araxá e o fosfato de alumínio ( $AlPO_4$ ), enquanto que, para o tratamento com  $FePO_4$ , apesar dos níveis de fosfato solúvel terem sido aumentados, não atingiram a A.M.S. (Tukey), em razão do alto coeficiente de variação do experimento.

#### SUMMARY

In this paper, the authors have studied, under laboratory conditions, the relations between several species of *Aspergillus* and *Penicillium* genders and three insoluble phosphates, having determined quantitatively both the portion rendered soluble and the one not decomposed by the fungi. From the results obtained the following conclusions were drawn:

1. All the studied strains showed high capacity to render soluble insoluble phosphates in petri dishes tests. Nevertheless, when quantitatively evaluated, only *A. niger* was able to render soluble an appreciable amount of insoluble phosphates.
2. The analysis of the data obtained with the *Penicillium* spp strain, showed that both increased significantly the levels of soluble phosphate for the aluminum phosphate treatment, compared with their sterile homologues; the levels of soluble phosphate in the checks decreased significantly and, the treatments with iron phosphate had their levels not altered significantly. On the other hand, in the treatments with "Araxá rock phosphate" the level of soluble phosphate did not change appreciably for the 4 RAIZ III strain and, decreased significantly for the 8 RIZ III strain.
3. The *Aspergillus* sp strain, reacted differently compared to the other fungi, that is, all treatments had their soluble phosphate levels decreased.
4. The indirect evaluation of available phosphorus in the soil, using *A. niger* and other fungi, shows inaccurate values due to the adherence of insoluble phosphate particles to the micellia.

## LITERATURA CITADA

- ALEXANDER, A., 1961. Introduction to soil microbiology. John Wiley & Sons Inc. New York. 467 pp.
- ANDA, Assoc. Nac. para Difusão de Adubos, 1968. Estatísticas de produção e consumo de fertilizantes, no Brasil, por regiões e de importação de adubos pelo porto de Santos. Boletim Informativo nº 9.
- BARBER, D.A. & B.C. LONGMAN, 1967. The effect of microorganisms on the absorption of inorganic nutrients by intact plants. II. Yp take and utilization of phosphate by barley plants grown under sterile and non-sterile conditions. J. Exp. Bot. 18: 170-176. (IN Abst. Soils and Fertilizers 30: 2725, 1967).
- BOTTEZ, A., 1965. Means of increasing phosphorus solubility in different soil types. Stiinta Sol. 3: 369-379 (IN Abst. Soils and Fertilizers 29(5): 2922, 1966).
- CATANI, R.A. & O.C. BATAGLIA, 1968. Formas de ocorrência do fósforo no solo latosólico-roxo. Anais da ESALQ, vol. 25 (no prelo).
- EIRA, A.F. & P.C.T. de CARVALHO, 1968. Levantamento de microrganismos solubilizantes de fosfatos. Abst. na XX Reunião Anual da SBPC 20 (2): 266. Rickia, 1970 (no prelo).
- HOLEVAS, C.D., 1966. The effect of a vesicular-arbuscular mycorrhiza on the uptake of soil phosphorus by strawberry (*Fragaria* sp var. Cambridge Favorite). J. Hort. Sci. 41:57-64 - Ints Phytopath Benaki Atenas - (IN Abst. Soils and Fertilizers 29: 1849, 1966)
- KUDZIN, Yu. K. & I. V. YAROSHEWICH, 1961. The mobilization of organic phosphates in Chernozem and the phosphorus nutrition of plants. Trudy Inst. Mikrobiol. Akad. Nauk 11: 252-259 (IN Abst. Soils and Fertilizers 25:2736, 1962).
- MALAVOLTA, E., 1967. Manual de Química Agrícola: Adubos e Adubação. 2ª Ed. Bibl. Agronômica CERES, São Paulo. 606 p.

- MENARDm L.N. & E.MALAVOLTA, 1962. Estudos com adubos fosfata - dos "Marcados" com fósforo - 32. 4th Inter American Symposium on the Paeceful Aplication on Nuclear Ener- gy. Ed. Pan American Union-Washington, D.C. Vol. II : 219-223.
- RAMOS, A., V. CALLAO & P.C.T. de CARVALHO, 1968. La solubiliza ción de fosfatos por hongos del suel. Microbiol. Es- paña, 21(1968), 23.
- ZAK, G.A. & M.F.MUKITITDINORE, 1964. Effectiveness of bacterial fertilizers for vegetables. Izv. Kuibyshev. Sol:Khoz. Inst. 14:80-88. (IN Abst. Soils and Fertilizers 29 (1): 345, 1966).
- ZAREMBA, V.P., E.G.TOMASHEVSKAYA & S.M.MALINSKAYA, 1966. Abili- ty of nodule bacteria to utilize difficulty soluble phosphates of calcium. Sel-Khoz. Biol. 1:842-850 (IN Abst. Soils and Fertilizers 30:1944, 1967).
- SUBRA-RAO, N.S. & P.D. BAJPAI, 1965. Fungi on the surface of legume root nodules and phosphate solubilization. Experientia. 21: 386-387 (IN Abst. Soils and Ferti - lizers 29: 1113, 1966).

